

# 抗生物質バクトボリン類縁体の化学-酵素ハイブリッド合成法の開発

## Development of Chemo-Enzymatic Synthesis of Antibiotic Bactobolin Analogues

名古屋大学	宮坂 忠親
研究期間	2025年7月1日～2026年1月31日
滞在研究機関	Department of Chemistry, Rice University 6500 Main St., Houston, TX 77030, U.S.A
共同研究者等	Prof. Hans Renata
区分	個人 B

Many biologically active secondary metabolites (natural products) have served as seed compounds for pharmaceutical and agrochemical products. However, the chemical synthesis of these structurally complex molecules and their analogues often require dozens of steps. Reducing the number of steps and improving overall efficiency remain critical challenges from a cost and sustainability perspective. While chemical reactions can flexibly transform substrates using various reagents, enzymatic reactions can enable transformations that are difficult or inaccessible using conventional chemical synthetic methods. Therefore, the strategic combination of chemical and enzymatic reactions is expected to provide a more efficient approach to target molecule synthesis. In this research, I aimed to establish a chemical-enzymatic hybrid synthesis method that employs an enzymatic reaction to achieve the direct C-H oxygenation of amino acids—a difficult process in modern organic synthesis—and efficiently converts the resulting products into useful natural products through chemical reactions.

### 研究目的

強力な生物活性を有する二次代謝産物（天然物）は、医薬品や農薬などのシード化合物として数多く活用されてきた。しかし、これらの有用天然物はしばしば複雑な化学構造を有し、その供給には数十段階に及ぶ化学変換を要することも少なくない。そのため、その工程数を削減し、効率的に合成する手法の確立は、コストおよび持続可能性の観点からも重要な課題である。一方、酵素反応はときに従来の有機合成反応では実現困難な反応を達成できる場合がある。化学合成と酵素合成は一部を除き、これまでほぼ独立して発展してきたが、両者を戦略的に組み合わせることができれば、標的物質のより効率的な合成が可能になると期待される。さらに、近年では酵素工学の急速な進展により、指向性進化法を用いた酵素遺伝子改変によって基質許容性の拡大や変換効率の向上などを行うことが可能になってきている。そこで本研究では、現代の有機合成では困難なアミ

ノ酸の直接的C-H酸素化反応を酵素反応で実現し、得られた生成物を化学反応により有用天然物に効率的に変換する化学-酵素ハイブリッド合成法の確立を目指した。

### 研究経過

派遣先の研究室では、以下の二つのプロジェクトに取り組んだ。

#### ① 強力な抗がん活性を有するペプチド系天然物の化学-酵素ハイブリッド合成研究

化学反応と酵素反応を相補的に活用することで、複雑な構造を有する抗がん活性ペプチド系天然物の合成を目指した。本化合物を二つのセグメントに分割し、それぞれを合成した後、最終段階で連結させることを計画した。私はそのうちの一つのセグメントの合成を担当した。派遣先の研究室で開発された手法を参考に<sup>2)</sup>、酸化酵素 GriE を用いてロイシンの

末端メチル基の立体選択的酸化を行い、水酸化ロイシンを良好な収率で得た。所望の酵素遺伝子をもつプラスミドを大腸菌に導入し、大量培養することにより得た菌体ライセートを用いて本反応を実施した。なお、本反応はグラムスケールで実施可能であり、後続反応に必要な十分量の基質を供給することができた。得られた水酸化ロイシンを数段階の化学反応により変換していくことで、標的天然物の部分構造の合成に成功した。今後は他のセグメント合成と各セグメント間のカップリング反応を経て全合成が達成されることが期待される。

## ②非古典的環状ジペプチド化合物群の化学-酵素ハイブリッド合成

上記の研究で合成した化合物は、古典的な環状ジペプチドとは異なる構造的特徴を有していた。この特異な骨格に着目し、多様な非古典的環状ジペプチドを合成することができれば、ケミカルスペースの拡張のみならず、新規生理活性物質の創出につながると着想した。さらに、これらの化合物を入手容易な原料から化学-酵素ハイブリッド法により効率的に供給することを目指した。

ロイシンやイソロイシン、プロモインドールなどの原料に対して様々な酵素反応を行うことで、非古典的アミノ酸をグラムスケールで合成した。その後、①で確立した方法をもとに、ニッケル触媒を用いたカップリング反応や分子内アミドカップリング反応などを経て、複数の非古典的環状ジペプチドの合成に成功した。今後は合成化合物群の生理活性試験により、有用活性物質の発見が期待される。

## 考察

今回行った酵素反応はいずれもグラムスケールで実施が可能であり、有機合成反応で展開するための十分量の基質供給が可能であった。酵素反応条件は派遣先の研究室で最適化されたもの基盤としたが、

酵素によっては遺伝子改変を行わずとも、培養条件や反応条件を検討することで変換効率の向上が達成できた。具体的には大腸菌の培養条件、添加剤や緩衝液の種類・濃度、攪拌速度などが酵素の発現量や酵素反応の効率に大きく影響することを確認した。したがって、少しでも望む変換反応が進行するのであれば、酵素の遺伝子を改変する前に、反応条件の最適化を十分に検討することが重要であると考えられる。一方で、基質特異性が高い酵素や、上記の検討を実施しても十分な変換がされない場合は、指向性進化法による酵素遺伝子の改変は強力な手法になりうる。しかしながら、本手法は多大な検討を要するため、天然物合成に組み込むには依然として一定のハードルが存在することも実感した。

本研究で実証した化学-酵素ハイブリッド戦略は、今後の天然物合成における重要な潮流になると考えられる。酵素反応と化学反応を相補的に活用する研究が今後さらに発展していくことが期待される。

## 参考文献

1. Zwick III, C. R.; Renata, H. "Overview of Amino Acid Modifications by Iron- and  $\alpha$ -Ketoglutarate-Dependent Enzymes" *ACS Catal.* **2023**, 13, 4853-4865.
2. Zwick III, C. R.; Renata, H. "Remote C-H Hydroxylation by an  $\alpha$ -Ketoglutarate-Dependent Dioxygenase Enables Efficient Chemoenzymatic Synthesis of Manzacidin C and Proline Analogs" *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, 140, 1165-1169.

## 研究の発表

口頭発表

1. Tadachika Miyasaka : Chemoenzymatic Synthesis of Cyclic Dipeptides. Nagoya-Rice Joint Chemistry Symposium (online) 2026.1.16